

# マウス皮下移植・転移モデルにおけるインターロイキン<sup>12</sup>の抗腫瘍効果とエフェクター細胞の解析

著者	小林 照忠
号	1470
発行年	1998
URL	<a href="http://hdl.handle.net/10097/21601">http://hdl.handle.net/10097/21601</a>

氏 名（本籍）	こ ばやし てる ただ 小 林 照 忠
学 位 の 種 類	博 士 （ 医 学 ）
学 位 記 番 号	医 博 第 1 4 7 0 号
学位授与年月日	平 成 10 年 3 月 25 日
学位授与の条件	学位規則第 4 条第 1 項該当
研 究 科 専 攻	東北大学大学院医学系研究科 （博士課程）外科学系専攻
学 位 論 文 題 目	マウス皮下移植・転移モデルにおけるインターロイキン12の抗腫瘍効果とエフェクター細胞の解析
論文審査委員	（主 査） 教授 松 野 正 紀      教授 金 丸 龍之介  教授 菅 村 和 夫

# 論文内容要旨

## 研究目的

インターロイキン 12 (以下 IL-12) は, 1989 年に発見されたサイトカインで, T および NK 両細胞の細胞傷害活性を強く増強することから, 悪性腫瘍に対する治療効果が期待されている。マウス実験系では, 腫瘍皮下移植モデルにおける CD8<sup>+</sup>T 細胞の活性化による抗腫瘍効果や, 腫瘍細胞の静脈内投与による血行性転移モデルにおける転移抑制効果などが報告されている。しかし, 同一モデル内において, 移植部位での腫瘍増殖ならびに同部からの転移をおこす実験系で, IL-12 の抗腫瘍効果を検討した報告は少なく, 移植腫瘍および転移に対する IL-12 の効果やその抗腫瘍エフェクター機構の異同は明らかにされていない。本論文では, まず, 皮下移植後, 同部での腫瘍増殖と肝転移をおこす, 腫瘍皮下移植転移モデルを作製した。このモデルを用いて, *in vivo* IL-12 投与を行い, 皮下移植腫瘍 (以下原発巣) の増殖に対する抑制効果と転移に対する抑制効果を検討した。次いで, 担癌状態の進行に伴う, 抗腫瘍エフェクター細胞の IL-12 に対する反応性の変化を調べ, IL-12 の抗腫瘍効果との関係について検討した。

## 研究方法と結果

高肝転移性腫瘍細胞である RL $\gamma$ 1 を同系マウス皮下に接種すると, 接種部位に腫瘍が生着し, 経時的に増大した。これらの担癌マウスは, 肝転移のため, すべて 1 ヶ月以内に死亡した。本モデルに対して, 腫瘍長径が 5mm に達した時点から, IL-12 を一回当たり 0.25  $\mu$ g, 週 3 回投与したところ, 原発巣の増殖, 肝転移とも著明に抑制された。一方, 担癌マウスの原発巣を外科的に切除しても, 生存期間の延長は認められなかった。

次いで, IL-12 の投与時期およびマウスの種類と, 原発巣増殖抑制効果および転移抑制効果の関係について検討した。+/+ および *nu/nu* マウスに対し, 腫瘍接種後, 早期群では 4 日目から, 後期群では 10 日目から, IL-12 の投与を開始した。原発巣については, +/+ マウスの IL-12 早期投与群で増殖抑制が認められたが, 後期投与群では Control 群と差がなかった。T 細胞欠損 *nu/nu* マウスでは, IL-12 後期投与群のみならず早期投与群においても, 原発巣に対する腫瘍増殖抑制効果は全く認められなかった。一方, 肝転移は, マウスの種類や投与時期に関わらず, IL-12 投与によって著明に抑制された。また, 抗 Asialo GM1 抗体投与は, IL-12 の原発巣増殖抑制効果に影響を与えなかったが, 転移抑制効果を部分的に阻害した。以上より, 1. 原発巣の腫瘍増殖抑制効果および転移抑制効果の主たるエフェクター細胞は, それぞれ, T 細胞および NK 細胞系であること, 2. 担癌状態が進行すると, IL-12 の原発巣増殖抑制効果と転移抑制効果

に差が生じることがわかった。

そこで、担癌マウスより分離した脾臓リンパ球を用いて、担癌状態の進行がエフェクター細胞群に及ぼす影響について調べた。in vitro IL-12 添加による T 細胞増殖反応の増強効果を、T 細胞機能の指標とした。NK 細胞系の指標には、in vivo IL-12 投与により誘導される細胞傷害活性を用いた。腫瘍移植後早期より、T 細胞の IL-12 に対する応答能は低下していた。一方、担癌後期においても、細胞傷害活性は誘導され、NK 細胞系の IL-12 に対する応答能は保たれていた。

## 結 論

皮下移植転移モデルにおいて、IL-12 の原発巣増殖抑制効果および転移抑制効果が認められ、その主たるエフェクター細胞として、T 細胞および NK 細胞系が示唆された。進行した担癌状態では、IL-12 の原発巣増殖抑制効果は減弱したが、転移抑制効果は保たれていた。これらの抗腫瘍効果の差は、原発巣に対するエフェクターである T 細胞と、転移に対するエフェクターである NK 細胞系の、担癌状態での IL-12 に対する反応性の差に起因し、各々のエフェクター細胞群が受ける免疫抑制の程度の差を反映していると考えられた。

## 研 究 の 意 義

原発巣を欠いた転移モデルに比べて、皮下移植により同部に腫瘍を形成し、続いて転移が成立する本実験モデルは、臨床的に遭遇する悪性腫瘍の自然経過により近いと考えられる。このような皮下移植転移モデルを用いて IL-12 の効果を検討した報告は少ない。とりわけ、皮下腫瘍と転移に対する抗腫瘍効果の違いに注目した報告は、検索し得た範囲ではなかった。担癌状態の進行に伴い、IL-12 投与による皮下移植腫瘍増殖抑制効果と転移抑制効果に差が生じることがわかった。また、その差は、エフェクター細胞の IL-12 に対する反応性の差に起因し、各々のエフェクター細胞が受ける免疫抑制の程度の差を反映していると考えられた。

## 審 査 結 果 の 要 旨

Interleukin-12 (IL-12) は、T 細胞と NK 細胞に作用し、1) T 細胞, NK 細胞からの IFN- $\gamma$  産生の誘導, 2) 活性化 T および NK 細胞の細胞増殖能の亢進, 3) NK 細胞の細胞傷害活性の増強, 4) CTL や LAK 細胞の誘導とその活性の増強, などの生物活性が報告されている。このように IL-12 は、T および NK 細胞の活性化因子であり、それらの細胞の細胞傷害活性を強く増強することから、悪性腫瘍に対する治療効果が期待されてきた。さらに、マウス腫瘍実験モデルならびにヒトの *in vitro* の実験系において、強い抗腫瘍効果が証明されている。教室においては、既に安西が、マウスを用いて、腫瘍細胞を静脈内投与することにより誘導される肝や肺への転移が、*in vivo* IL-12 投与により濃度依存的に抑制されることを報告し、そのエフェクター細胞についても言及している。

本論文は、これまでの結果を踏まえて、マウス皮下移植・肝転移モデルを用いて、IL-12 による移植腫瘍の増殖抑制効果ならびに肝転移抑制効果を解析したものである。本研究では、人工的に作製される転移とは異なり、「原発巣」ともいうべき皮下移植腫瘍から自然に転移が形成される実験モデルが用いられている。ヒト癌の臨床経過により近いものと考えられ、このような実験系において IL-12 の抗腫瘍効果を解析したという点に意義がある。また、IL-12 の抗腫瘍効果を、皮下移植腫瘍の増殖抑制効果ならびに肝転移抑制効果という観点から捉え、進行担癌状態における効果の差が、エフェクター細胞 (T 細胞と NK あるいは NK<sup>+</sup>T 細胞) の IL-12 に対する反応性の差に基づくことを確認している点は、全く新しい知見であり、特に優れている。

本研究において、IL-12 は、進行した担癌状態においても強い転移抑制効果を発揮し、その抗腫瘍効果についてエフェクター細胞レベルでの裏付けが得られた。今回の実験モデルのようなヒト癌の臨床経過に近い系で、IL-12 の転移抑制効果が確認されたことは、ヒト癌の遠隔転移に対する根治的あるいは予防的免疫療法への IL-12 の臨床応用に根拠を与えるものと考えられる。

本論文は、IL-12 の抗腫瘍効果とそのエフェクター細胞の関連性に新しい知見を提供し、IL-12 の臨床応用への新たな学問的根拠を付加する優れた論文であり、従って、学位論文として十分に値するものと認める。